

① 日本国特許庁 (JP) ② 特許出願公開

③ 公開特許公報 (A) 平2-120655

④ Int.Cl.³
G 01 N 27/327

案別記号 戻内整理番号

⑤ 公開 平成2年(1990)5月8日

7363-2G G 01 N 27/30 3 5 3 J
7363-2C R

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全3頁)

⑥ 発明の名称 グルコースセンサ

⑦ 等 類 昭63-273130
⑧ 出 願 昭63(1988)10月31日

⑨ 発明者 後藤 正男 神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌオーケー株式会社内

⑩ 発明者 高津 一郎 神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌオーケー株式会社内

⑪ 出願人 エヌオーケー株式会社 東京都港区芝大門1丁目12番15号

⑫ 代理人 弁理士 吉田 優夫

四四 国別 摘要

1 発明の名称

グルコースセンサ

2 特許請求の範囲

1. 舌尖方向に平歛された中空軸状刃根の切削部間に絶縁層を介してグルコースオキシダーゼ酵素固定化平板状作用極を酵素固定化面側に内側に向けて密着してなるグルコースセンサ。

3 発明の詳細な説明

【並構上の利用分野】

本発明は、グルコースセンサに関する。更に詳しくは、アンペロメトリ型のグルコースセンサに関する。

【従来の技術】

従来のアンペロメトリ型グルコースセンサにおいては、2個の電極を必要としており、その内の1個は対極であり、他の1個は作用極であって、作用極にはグルコースオキシダーゼ酵素(600)が固定化されている。このセンサの原理は、グルコースと600との反応に伴ない作用極上で発生する電

荷変化を測定することにより、グルコース濃度を決定し得るものである。

ところで、グルコースセンサの一つの形態として、針状構造のものが挙げられるが、先述のアンペロメトリ型グルコースセンサでは、これら2個の電極が例えばガラス板などの平板状のものを平行に並べて形成させたものが代表的であり、生体内に導入しあり血漿などの弱酸性に適応して使用し得る耐候性強度としたものはまだ実用化されていない。これは、溶出そのもので過剰する製作の困難さや酵素固定化の難易さに由来しているものと考えられる。

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、このような問題点を克服し、酵素固定化や製作の容易性が得られるアンペロメトリ型グルコースセンサを提供することにある。

【問題を解決するための手段】

かかる目的を達成せしめる本発明のグルコースセンサは、舌尖方向に平歛された中空軸状刃根の切削部間に絶縁層を介してグルコースオキシダーゼ

酵素固定化平板状作用層を酵素固定化装置内側に向けて接着してなる。

前面の第1項には、本表面に係るグルコースセンサの一端板が接着前の状態で斜視図として示されている。即ち、針状対座1は、一般に外径が約1mm以下の白金、金、チタンなどの中空針の先端方向の半載物2であって、その先端部3が挿入し易いように斜面計状に彫切されている。そして、半載された切削面には、一粒に後述測定を兼ねた熱電偶4が、例えばエポキシ樹脂接着剤、シリコン系接着剤あるいはガラスなどが愈合されている。

一方、この絶縁層を介して中空針状対座に接着されるグルコースオキシダーゼ酵素固定化平板状作用層6は、厚さ約0.05~1mm程度の白金、チタンなどの平板6であって、一般にその先端が後述測定の先端部2である。端が切削面と極に等しいものの片面側にGODを固定化7せしめている。

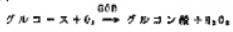
GODの作用層上への固定化に際しては、膜形成材料、例えば酵素セルロースなどのセルロース膜、ポリビニルブチラール、ポリスルホンなどの合成

高分子物質、あるいはセルロース、キチン、アルブミン、アルギン酸ナトリウム、アガロース、カラギーナンなどの天然高分子物質が用いられ、それらを可溶性溶媒に溶解させたドープ液として調製した後、波板法、ドロップ法、スピテ法などにより作用層面上に適用する。また、膜形成材料として、分子中に光吸収基團としてスチルバゾリウム塩、ジアザ基などの感光性基を有するポリビニルアルコールなどの水溶性高分子量合体なども水溶液として用いることができる。

これらの膜形成材料によって形成される膜上へのGODの固定化は、グルタルアルデヒド、カルボジイミドなどを用いる共重結合法、イオン結合法、感光法、加熱法など一般的に用いられている方法によって行われる。あるいは、膜形成材料の溶液中などにGODを混合しておき、溶液滅時にこれらを固定化方法により固定化をすることもある。この場合、光吸収基團合体が用いられたときには、その光吸収はGODを失活させない波長である約350~450nmの近紫外線による光照射によって行わ

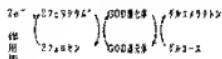
れる。

このような固定化GODによるグルコースの定量は、



なる反応により、生成したH₂O₂を作用層での検査電極化として検出する。

また、電子メディエータ（電子供給体）であるフェロセン化合物、具体的にはフェロセン【ビス（クロペンタジエニル）鉄（II）】またはその誘導体、例えば1,1'-ジメチルフェロセンなどを用い、それを作用層面上に真直接着させた後、この両面間にGODを一般的に用いられる固定化法によって固定化せしめ、あるいはGODを固定化させた後フェロセン化合物をそこに噴下法などで重層し、



この場合には、グルコースL分子が酸化されるのに、1電子の作用層への移動が行われるので、これを電荷変化として検出することができる。

かかるGOD固定化平板状作用層の中空針状対座への接着は、酵素固定化物質が内側に向けるようにして行われる。なお、対座および作用層からは、それぞれリード線6.5μが引き出されており、接続時には、これらの端子とは別に参照端子を用いられる。

〔発明の効果〕

本発明に係る針状のアンペロメトリ型グルコースセンサは、グルコースオキシダーゼ酵素の固定化が平板状の作用層上に對して行われるのでそこに固定性ではなく、また針状電極という形状に基因する操作上の困難性も克服されず、全体的に挿入し易く直線性などの測定にお適に使用し得るグルコースセンサとして提供される。

〔実施例〕

次に、実施例について本発明を説明する。

実施例

第一例に採用された感度のグルコースセンサを作成した。中空針状対座は、内径0.8mm、外径1.0mm、厚さ3mmの白金中空針を並置し、先端部を斜めに

たものであり、平板状作用層としては、 $1.0 \times 2.5 \times 0.2$ mmの寸法のものが用いられ、その片面側にGODを固定化させた。

GODの固定化は、GOD30mgおよび牛血清アルブミン30mg含む5%の5mMトリス-マレイン酸緩衝液0.4mlに溶解し、その4mlを平板状作用層面上に滴下し、4°Cで4時間放置した後、そこに1.1%ジメチルフェロセンのペストン溶液4mlを滴下し、再び4°Cで8時間放置することにより行われた。

このGOD固定化平板状作用層を、酵素固定化面側を内側に向けて、中空針状対極にその切端面に施されたエポキシ樹脂接着剤を介して接着し、4°Cで4時間放置した。

これらの各部をボテンショスタットに接続し、対極-作用層間電位50mV、作用層-参比電極(As/As₂O₃電極)間電位200mVとして、グルコースに対する応答を観察した。固定は、37°Cで約7.5の5mMトリス-マレイン酸緩衝液を使用して行われた。その結果は、第1回のグラフに示されるようだ。グルコース濃度50~300mg/dlの範囲内で、応答

発現の正常値との間に直線的な相関関係が認められた。

4 図面の範囲を示す説明

第1回は、本発明のグルコースセンサの一実験を被着物の状態で示した概観図である。また、第2回は、このグルコースセンサを用いた場合のグルコース濃度と出力電流との関係を示すグラフである。

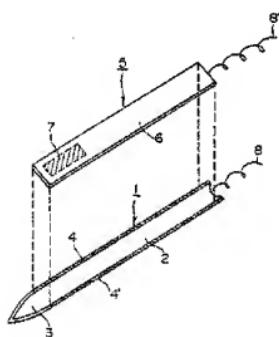
(各部の説明)

- 1 鈍状針頭
- 2 中空針の平板物
- 3 繊維層
- 4 GOD固定化平板状作用層
- 5 平板
- 6 固定化GOD

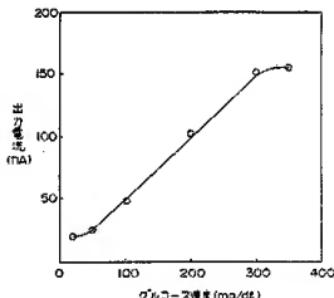
代理人

弁理士 吉田俊夫

第1回



第2回



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : **02-120655**

(43)Date of publication of application : **08.05.1990**

(51)Int.CI.

G01N 27/327

(21)Application number : **63-273130**

(71)Applicant : **NOK CORP**

(22)Date of filing : **31.10.1988**

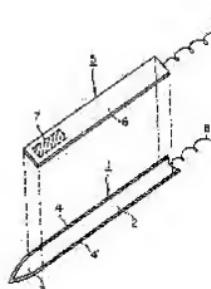
(72)Inventor : **GOTO MASAO
TAKATSU ICHIRO**

(54) GLUCOSE SENSOR

(57)Abstract:

PURPOSE: To facilitate the immobilization of enzyme and manufacturing by a method wherein a glucose oxidase immobilizing flat plate-shaped acting electrode is bonded to the cut surface of a hollow needle like opposed electrode through an insulating layer in such a state that the enzyme immobilizing surface of the acting electrode is turned toward the inside.

CONSTITUTION: A hollow needle like opposed electrode 1 is formed by obliquely cutting the leading end part of the half cut body of a platinum hollow needle. Glucose oxidase (GOD) 7 is immobilized on the single surface of a GOD immobilizing flat plate-shaped acting electrode 5. The acting electrode 5 is bonded to the electrode 1 through the epoxy resin adhesive layer applied to the cut surface of the electrode 1 so that the enzyme immobilizing surface of the acting electrode 5 is turned toward the inside. By this method, a sensor easy in the immobilization of enzyme and manufacturing, easily inserted in a living body and suitable for measuring a sugar level in blood is obtained.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office